

Universidad Autónoma De Nuevo León

Facultad De Medicina



Comparación de citocinas de respuesta pro-inflamatoria y anti-inflamatoria en pacientes con ASH, NASH y BASH

Por

Dr. Leonardo René Aguilar Rivera

**Como requisito parcial para obtener el grado de
Especialista en Medicina Interna**

Enero, 2020

“Comparación de citocinas de respuesta pro-inflamatoria y anti-inflamatoria en pacientes con ASH, NASH y BASH”

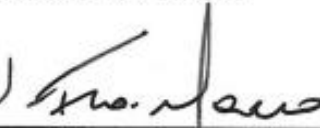
Aprobación de la tesis:



Dra. C. Liliana Torres González
Directora de tesis



Dra. C. Paula Cordero Pérez
Co-Directora de tesis



Dr. Juan Francisco Moreno Hoyos
Coordinador de enseñanza



Dr. med. Juan Fernando Góngora Rivera
Coordinador de investigación



Dr. med. Homero Nañez Terreros
Profesor titular del programa



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es producto del esfuerzo de un gran grupo de personas.

Primero quiero agradecer a mi familia, agradecer el apoyo que me han dado para estar culminando mi formación a nivel de especialidad médica y la tesis, agradecer los valores inculcados y las enseñanzas. Por siempre buscar lo mejor para mí.

Agradezco a la Dra. C. Liliana Torres González, la persona que fungió como mi directora de tesis y más. Gracias por guiarme en este proceso, por exigirme, por ayudarme a sacar el mayor provecho posible, por enseñarme, por preocuparse por mí, por su paciencia y comprensión. Más aún le agradezco el ser dura conmigo cuando no hice bien las cosas, por ir más allá de instruirme. Si tuviera que resumirlo sería, gracias por su calidad humana y profesional. ¡Gracias Dra.!

Agradezco a la Dra. C. Paula Cordero Pérez, mi co-directora de tesis, por las correcciones, la guía, el tiempo, la pasión e interés que le dio al trabajo y mi persona.

Quiero agradecer a la Dra. Linda E. Muñoz Espinosa, que me apoyó en este trabajo, me permitió integrarme al trabajo y recursos de la unidad de hígado, expedientes, pacientes, y sus consejos.

Agradecer a mi jefe de departamento el Dr. med. Homero Nañez Terreros, por el apoyo y las facilidades brindadas durante la realización de todo el proyecto.

A mi pareja Alejandra Pérez Villar, gracias por tu apoyo durante los altibajos, por tu tiempo, tu comprensión, esfuerzo y aliento. Contigo aprendí de trabajo y amor. Se culmina esta tesis y agradezco haber recorrido el camino de tu mano y haber tenido una colaboradora increíble.

Agradezco a mis dos compañeros de pre-grado Adrián Alejandro Lugo Rodríguez y Mauricio Efrén Posada Lerma por el esfuerzo, el tiempo dedicado a este trabajo, su labor es muy importante en los resultados.

Cuando digo gracias quiero transmitir la mayoría de sus acepciones, respeto, gracia, agradecimiento y bendición.

Soy consciente de todas las tareas que me falta por hacer y aspectos de mi trabajo que deben mejorar. Deseo que este trabajo se considere un reconocimiento al trabajo de todo el equipo, un estímulo a todos aquellos que piensan que no se puede lograr un trabajo de calidad, que tienen inquietudes o tienen poca experiencia como yo.

Tabla de contenido

Índice de tablas.....	VII
Índice de figuras.....	VIII
Lista de abreviaturas.....	IX
Capítulo I	1
Resumen	1
Capítulo II	3
Introducción	3
2.1 Hepatopatía por alcohol (ASH).....	4
2.1.1.1 Patogénesis.....	5
2.2 Esteatohepatitis no alcohólica (NASH).....	6
2.2.1 Patogénesis.....	8
2.3 Esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica (BASH)	10
2.4 Definición del problema	11
2.5 Antecedentes directos	12
2.6 Justificación	16
Capítulo III	17
Hipótesis.....	17
Capítulo IV	18
Objetivos.....	18
4.1 Objetivo general	18
4.2 Objetivos específicos.....	18
Capítulo V	19
Material y métodos	19
5.1 Criterios de inclusión	19
5.2 Criterios de exclusión	20
5.3 Criterios de eliminación.	20
5.4 Toma de muestra sanguínea.....	20
5.5 Cuantificación de citocinas.	20
5.7 Análisis de resultados.....	21
Capítulo VI	22

6.1 Caracterización de la población de estudio	22
6.2 Niveles séricos de citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias	27
6.3Perfiles de distirbución de citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias	32
Capítulo VII	33
Discusión	33
Capítulo VIII	39
Conclusión.....	39
Capítulo IX	40
Anexos.....	40
Capítulo X	47
Bibliografía.....	47
Capítulo XI	54
Resumen autobiográfico.....	54

Índice de tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Variables demograficas y antropométricas en los diversos grupos de estudio.....	22
Tabla 2. Variables de los parámetros bioquímicos en los diversos grupos de estudio	23
Tabla 3.Variables del perfil de lípidos en los diversos grupos de estudio	24
Tabla 4.Variables de los parámetros hematológicos en los diversos grupos de estudio	24
Tabla 5.Variables de los parámetros de función hepática en los diversos grupos de estudio	25
Tabla 6. Signos de función hepática en los diversos grupos de estudio.....	26
Tabla 7.Escalas de daño hepático (Child-Pugh, FIB-4 score, NAFLD score, APRI) en los diversos grupos de estudio	26
Tabla 8.Variables intergrupales con diferencia significativa de acuerdo a la clasificación de Child-Pugh en los diversos grupos de estudio.....	27
Tabla 9. Patrón de distribución de citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias en los diversos grupos de estudio.....	32

Índice de figuras

Figura	Página
Figura 1.Mecanismos de lesión hepática inducido por alcohol y grasa	3
Figura 2.Concepto de BASH en el tiempo	12
Figura 3.Niveles séricos de IL-1 β en los diversos grupos de estudio	28
Figura 4.Niveles séricos de IL-6 en los diversos grupos de estudio	28
Figura 5.Niveles séricos de IL-10 en los diversos grupos de estudio	29
Figura 6.Niveles séricos de FNT- α en los diversos grupos de estudio	29
Figura 7.Niveles séricos de IL-8 en los diversos grupos de estudio	30
Figura 8.Niveles séricos de IL-6 de acuerdo con Child-Pugh A en los diversos grupos de estudio	31
Figura 9.Niveles séricos de IL-8 de acuerdo con Child-Pugh A en los diversos grupos de estudio	31
Figura 10.Niveles séricos de IL-10 de acuerdo con Child-Pugh A en los diversos grupos de estudio	31
Figura 11.Niveles séricos de IL-10 de acuerdo con Child-Pugh B en los diversos grupos de estudio	31

Lista de abreviaturas

ABTS: sal de diamonio 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico acido)

ALT: Alanino Aminotransferasa

ASH: Alcoholic Steato Hepatitis por sus siglas en ingles

AST: Aspartato Aminotransferasa

BASH: Both Alcoholic and no alcoholic Steteato Hepatitis por sus siglas en ingles

C: Citocina

CP: Child-Pugh

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2

FTN- α : Factor de necrosis tumoral alfa

G: gramo

IL-1 β : Interleucina 1 beta

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

IL-10: Interleucina 10

IMC: Índice De Masa Corporal

NAD: Nicotinamida adenina dinucleótido

NADH: Nicotinamida adenina dinucleótido-reducida

NASH: Non Alcoholic Stetato Hepatitis por sus siglas en ingles

Oz: Onza

Capítulo I

Resumen

Introducción: La enfermedad hepática crónica representa un importante problema de salud pública y es consecuencia de diferentes agresiones, en su evolución puede involucrar esteatosis, esteatohepatitis, fibrosis y cirrosis. Los mecanismos de la progresión de la enfermedad incluyen desregulación de la respuesta inmunológica, factores genéticos y estrés oxidativo generado durante el metabolismo. Se ha descrito el papel de las citocinas interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), interleucina 10 (IL-10), factor de necrosis tumoral alfa (FTN- α) en la esteatohepatitis alcohólica (ASH por sus siglas en ingles) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH por sus siglas en ingles); sin embargo, en la enfermedad donde están implícitos el daño por obesidad y consumo de alcohol recientemente conocida como Both Alcoholic and no alcoholic SteatoHepatitis (BASH por sus siglas en inglés) no se ha descrito aún este tipo de marcadores. **Objetivo:** Determinación de un perfil de citocinas de respuesta inflamatoria y anti-inflamatoria en pacientes con ASH, NASH y BASH. **Material y métodos:** Se desarrolló un estudio transversal, prospectivo, observacional con universo de estudio definido por los pacientes seleccionados por conveniencia (ingresados con ASH, NASH y BASH de marzo 2019 a marzo de 2020, cumpliendo los criterios de inclusión que acudieron por atención al Departamento de Medicina Interna vía consulta o internamiento y en Unidad de Hígado del Hospital Universitario “Dr. José E. González”. Se obtuvo una muestra única de sangre total y se determinaron los niveles séricos de las

citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias por ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima. **Resultados:** se incluyeron 114 pacientes: 35 ASH, 43 NASH y 34 BASH. La gravedad de los pacientes respecto a parámetros clínicos y bioquímicos en orden creciente fue NASH<BASH<ASH. Se observó en orden creciente que los niveles de las citocinas IL-8, IL-6 e IL-10 en los grupos de estudio fueron: NASH (13 ± 22 , 18 ± 53 y 32 ± 105 pg/mL) < BASH (21 ± 19 , 25 ± 104 , 748 ± 1134 pg/mL) < ASH (73 ± 130 , 33 ± 54 y 1259 ± 1312 pg/mL), respectivamente. Los niveles de FNT- α fueron: BASH (2.2 pg/mL) < NASH (2.6 pg/mL) < ASH (4.5 pg/mL) ; mientras que los niveles de IL-1 β no mostraron diferencia significativa entre los 3 grupos. **Conclusión:** Se determinó un perfil diferencial de citocinas en los pacientes con BASH en comparación con ASH y NASH, donde los niveles de citocinas proinflamatorias IL-8 e IL-6 y anti-inflamatoria IL-10 se encontraron aumentadas en BASH en comparación con NASH y menores que en pacientes con ASH; mientras que FNT- α mostró niveles intermedios en los pacientes con BASH. La IL-1 β no fue una citocina diferencial entre los grupos de estudio.

Capítulo II

Introducción

La enfermedad hepática crónica es consecuencia de diferentes agresiones, los mecanismos de progresión de la enfermedad incluyen respuesta inmunológica, factores genéticos y estrés oxidativo generado durante el metabolismo como se muestra en la Figura 1.

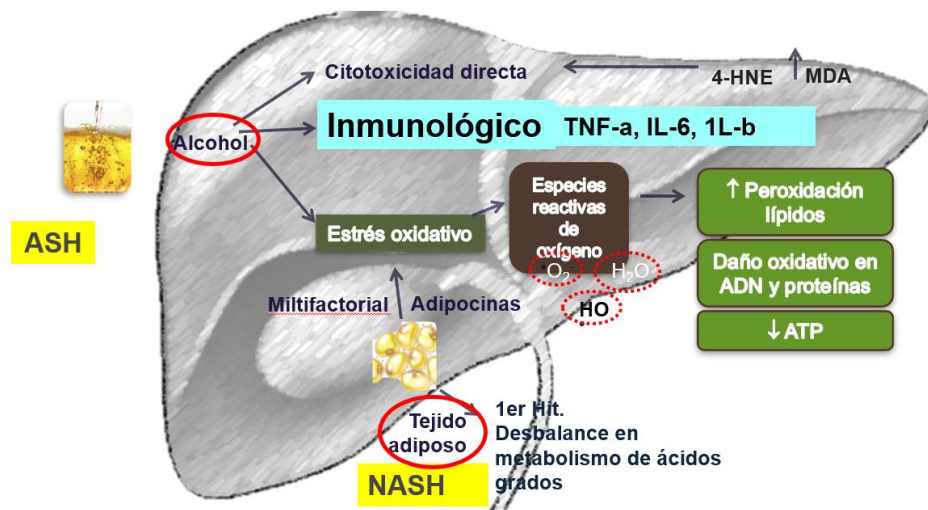


Figura 1. Mecanismos de lesión hepática inducida por alcohol y grasa

El daño hepático progresivo puede involucrar inflamación, esteatosis, esteatohepatitis, fibrosis, cirrosis y cáncer hepático.

Las principales etiologías de la hepatopatía crónica son la hepatitis por virus C, la enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD, por sus siglas en inglés, Non-Alcoholic fatty liver Disease) y hepatopatía inducida por alcohol (ASH, por sus siglas en inglés, Alcoholic Steato Hepatitis). Estas últimas 2 han sido las de mayor incremento en países desarrollados, llegando a ser las primeras causas de cirrosis en lugares como China y otros países asiáticos (Asrani, et al., 2019; Byass, 2014; Lozano, et al., 2012), mientras que solo NAFLD representa en la

actualidad la enfermedad hepática más prevalente en los países occidentales, asociándose fuertemente a una manifestación hepática del síndrome metabólico (Rinella ME, 2015). La cirrosis es una causa relevante de morbi-mortalidad a nivel mundial, es la 11ª causa de muerte a nivel global y ocupando el lugar 16 está el cáncer hepático. Está relacionada en la muerte de 3 millones de personas por año a nivel mundial debido a complicaciones, 1 millón debido a hepatitis viral, así como carcinoma hepatocelular (CHC) (Asrani SK, et al., 2018) y en México es la 5ª causa de mortalidad (INEGI 2016/Secretaría de Salud 2008). Así ocupa un lugar dentro de las primeras 20 causas de discapacidad en años de vida ajustados, y en años de vida perdidos (1.6% y 2.1% respectivamente) (Byass P, 2014; Asrani SK, 2018).

2. 1 Hepatopatía Por Alcohol (ASH)

La ASH es la principal causa de enfermedad hepática a nivel mundial (Rehm J, 2009), cerca de 2 billones de personas consumen alcohol y cerca de 75 millones son diagnosticados con problemas relacionados con su uso y se encuentran en riesgo de hepatopatía por alcohol (OMS, 2004). El consumo de alcohol está definido como consumo diario en hombres mayor a 2 bebidas estándar por día y mayor a 1 bebida estándar por día, una bebida estándar contiene 14 gramos (g) de alcohol, el cual puede ser encontrado en una cerveza de 12 onzas (oz) con 5% de alcohol o 5 oz de vino con 12% de alcohol o 1.5 oz de destilados al 40%. El punto de corte como factor de riesgo de progresión en el alcoholismo es de mayor de 14 bebidas estándar por semana en mujeres y mayor a 21 bebidas estándar por semana en hombres. Sin

embargo, la obesidad en conjunto con el consumo de alcohol puede potenciar la gravedad de los estadios de hepatopatía alcohólica (Mathurin P, 2007).

En México el patrón de consumo diario en personas de 12 a 65 años es de 4.5% en hombres, 1.4% en mujeres con un global de 2.9% en población general, un consumo excesivo de 29.9% en hombres y 10.3% en mujeres con un global de 19.8%, por último, con consumo consuetudinario de 9.6% en hombres, 3.5% en mujeres y 8.5% en global (ECODAT, 2016). Existe un patrón diferente para la relación de consumo de alcohol y su resultado en cirrosis por área geográfica, siendo en Norteamérica un 62%, Europa 60%, América Latina 53%, Pacífico 50%, África 48%, Sureste asiático 33% y 14% en Mediterráneo (Stein E, 2016). Se ha registrado que ASH tiene una mayor tasa de progresión a cirrosis y mortalidad que NAFLD (36% vs 7% en mortalidad respectivamente) (Raynard B, 2002; Haflidadottir Sm, 2014).

2.1.1 Patogénesis de ASH.

La inflamación en la hepatopatía alcohólica existe por diferentes vías de activación de la cascada inflamatoria: 1) directamente y por metabolitos del alcohol causan daño a hepatocitos, llevando a hipoxia, inducción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en ingles Reactive oxygen species) y apoptosis; 2) a través de los efectos intestinales con alteraciones en la barrera y aumento de la permeabilidad intestinal, llevando a aumento en los niveles de lipopolisacáridos (componente bacteriano de las bacterias gram negativas) que

representa la señal dañina más potente para la activación del sistema inmune innato a través del complejo receptor tipo Toll en circulación portal y sistémica (Rehm J, 2009). Tanto el consumo de alcohol en cantidades altas y corto tiempo como el consumo crónico elevan la actividad inflamatoria y producción de IL-1 β por activación de los receptores tipo Toll 4 y la activación de la caspasa 1 para escindir la pro-IL1 β , demostrado en modelos en ratones con déficit de actividad en la cascada para la activación de IL-1 β con protección para el desarrollo de esteatohepatitis o inflamación hepática (Barbier, et al., 2019). Estudios en humanos han demostrado que la cascada inflamatoria es activada en las células inflamatorias mononucleares hepáticas y es 20 veces mayor que en las células hepáticas primarias. Las células de Kupffer juegan el mayor rol en la actividad inflamatoria, los patrones moleculares por daño directo del alcohol a los hepatocitos son la mayor fuente de ligandos. El adenosin trifosfato es uno de varios ligandos con capacidad para activar la cascada inflamatoria en presencia de lipopolisacáridos (Szabo G, et al., 2015).

2.2 Esteatohepatitis No Alcohólica (NASH)

La NAFLD involucra un amplio espectro de desórdenes hepáticos que abarca desde la esteatosis simple hasta su forma más severa, la esteatohepatitis no alcohólica (NASH, por sus siglas en inglés non alcoholic steatohepatitis) (EASLD., 2016); esta última puede progresar a cirrosis o CHC en el 20-25% de los pacientes (Vernon G, et al., 2011). La prevalencia de NAFLD varía de 8 a 45% dependiendo de la definición y población estudiada, con una prevalencia media global del 25.2% y hasta el 30% en Sudamérica (Younossi ZM, et al.,

2016). El incremento de la prevalencia de NAFLD/NASH está en paralelo al incremento de la pandemia de obesidad, diabetes mellitus 2 (DM2), síndrome metabólico (DM2, hipertensión, hiperlipidemia), antecedente de cirugía bariátrica y etnia hispana, (Browning JD, et al., 2004; Forlani G, et al., 2016) llegando hasta el 40 a 50% de prevalencia en esta población, y 7% en población sin sobrepeso; y se estima que NAFLD/NASH será la causa principal de progresión a cirrosis y CHC en los próximos 5 años (Xu C, et al., 2013). Debido a que la progresión de hígado graso a NASH es más rápida y agresiva en niños que en adultos, es especialmente preocupante el hecho de la obesidad en la vida temprana, ya que esto aumenta el riesgo de cirrosis y CHC en la edad adulta (Araújo AR, 2018).

La NASH es caracterizada en histología por esteatosis macrovesicular, necrosis hepatocelular, infiltrado inflamatorio mixto, grados diversos de fibrosis y en algunos pacientes cuerpos hialinos de Mallory (Tannapfel A, et al., 2011). Su incidencia está aumentando rápidamente con el incremento de la prevalencia de obesidad y afecta a adultos en edad económicamente activa y niños. La tendencia al desarrollo de esteatosis hepática difiere entre los grupos étnicos, con una frecuencia baja (24%) en población Africo-americana, una frecuencia intermedia en europeos (33%) y alta en Hispanos (45%) (Caligiuri A, et al., 2016). La NASH está asociada con factores de riesgo tales como obesidad, resistencia a la insulina y síndrome metabólico (Chalasani N, et al., 2012). Se ha estimado que 2 billones de adultos se encuentran en sobrepeso u obesidad y más de 400 millones tienen DM2, ambos en riesgo de desarrollar esteatosis

hepática, NASH y CHC (Asrani SK, et al., 2018). Tanto la obesidad y la DM2, llevando de la mano el aumento de la prevalencia de estas condiciones, con 39.2 % de prevalencia para sobrepeso y 33.3% de prevalencia para obesidad reportada en el 2016 llevando a un total de 72.5% de población adulta con problemas de sobrepeso u obesidad, por otro lado la prevalencia de DM2 es del 9.4% en la población general reportada en el 2016 (ENSANUT 2016). El riesgo de mortalidad es mayor que en los pacientes con cirrosis por otras causas, debido a la asociación de la NASH con factores metabólicos y de riesgo cardiovascular, habiéndose descrito en varios estudios que la principal causa de mortalidad en estos pacientes son los eventos cardiovasculares (Liu W, et al. 2016). La prevalencia de NASH se estima en 2-5 % en población general (Liu W, et al. 2016) y aunque en nuestro país se desconoce se ha estimado en un 10 % (Bernal-Reyes R, et al. 2000). Sin embargo, en México se ha reportado que la prevalencia de obesidad es en hombres de 67.5%, sobrepeso 75% y de DM2 es cercana a 9% en pacientes con NASH. La presencia de síndrome metabólico es de 13.6 a 26.6% y de este grupo 90% presentan obesidad, lo cual pareciera hacer mayor la prevalencia de NASH (Aguilar-Salinas CA, et al. 2003).

2.2.1 Patogénesis de NASH.

La NASH es caracterizada por daño hepatocelular, inflamación y fibrosis (Brunt EM, et al. 2011). Aunque esta fue documentada hace más de 30 años (Ludwing J, 1980), su patogénesis no ha sido completamente dilucidada. La actividad inflamatoria y activación de IL-1 β depende del tipo de dieta usada, el tiempo del

tratamiento empleado y otros factores multivariados en la progresión de NAFLD y NASH, existe una relación mayor en género hacia varones sobre mujeres para desarrollo de NASH y CHC. Las dietas altas en grasa y en dietas carentes de metionina y colina inducen mayor tasa de esteatohepatitis. En dietas altas en grasas se ven elevados receptores tipo Toll 4, 9, AIM2 y NLRP3 y producción elevada de citocinas (Szabo G, et al., 2015). Inicialmente se propuso la hipótesis de “dos-hits” (Day CP, et al., 1998). En esta hipótesis la esteatosis hepática se produce primero y progresa a NASH por un segundo hit, llevando a la presencia de inflamación, daño hepatocelular y fibrosis. Mientras que la acumulación de triglicéridos es necesaria para el desarrollo de NASH, estos pueden tener actualmente un papel protector contra la lipotoxicidad, la cual es principalmente inducida por ácidos grasos y metabolitos derivados tales como diacilglicerol, acilcarnitinas o ceramidas (Cusi K. 2012; Neuschwander-Tetri BA. 2010). Además, no es claro si el desarrollo de NASH es secuencial al hígado graso o si es una respuesta al entorno lipogénico tóxico de novo. En tiempo reciente, se ha propuesto una hipótesis de “múltiples hits paralelos”, sugiriendo que la NASH es el resultado de numerosas condiciones que actúan en paralelo, incluyendo predisposición genética, metabolismo anormal de lípidos, estrés oxidativo, lipotoxicidad, disfunción mitocondrial, producción alterada de citocinas y adipocinas, desregulación de microbiota y estrés de retículo endoplásmico. De acuerdo con esta hipótesis, la inflamación hepática en NASH puede preceder incluso a la esteatosis (Tilg H, et al. 2010).

2.3 Esteatohepatitis Alcohólica y no Alcohólica (BASH)

El termino BASH recientemente referido en la enfermedad hepática crónica, es una etiología mixta que involucra la población con consumo de alcohol y obesidad, que no ha sido caracterizada y permanece poco analizada. Algunos datos derivados de pocos estudios prospectivos de cohortes sugieren que los efectos conjuntos del alcohol y la obesidad pueden aumentar sinérgicamente el riesgo de lesión hepática y el riesgo de muerte por daño hepático e incidencia de CHC (Loomba R, 2009; Hart CL, 2005; Loomba R, 2013). En este sentido, un estudio demostró que el alcohol y la obesidad aumentan sinérgicamente el riesgo de un incremento en los niveles de alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa en suero (Loomba R, 2009). En otro estudio, Hart et al. realizaron el seguimiento de 9,559 hombres escoceses durante 42 años y encontraron que la obesidad y el consumo de alcohol tuvieron una interacción supra-aditiva en su asociación con el riesgo de morbilidad y mortalidad por enfermedad hepática, reportando el incremento de riesgo en la enfermedad hepática en pacientes alcohólicos con normopeso, sobrepeso y obesidad de 3.16, 7.01 y 18.9% respectivamente (Hart CL, 2005). Loomba et al. examinaron si la obesidad y el alcohol eran multiplicativos para incrementar el riesgo para desarrollar CHC en hombres y mujeres de una cohorte de 23,712 pacientes Taiwaneses en seguimiento de 11.6 años, estableciendo que estos factores incrementaban el riesgo de CHC (Loomba R, 2013). Aunado a lo reportado, es plausible que en la patogénesis de esta etiología tanto la obesidad como el

alcohol lleven a un aumento de la liberación de citocinas por parte de los hepatocitos y las células de Kupffer que pueden conducir a la activación de las células estelares hepáticas (Xu C, et al., 2013). Estas vías mecánísticas, junto con otras vías hasta ahora desconocidas, indudablemente aumentan el riesgo de progresión hacia esteatohepatitis. Por lo anterior expuesto es que esta es un área que requiere más investigación a fin de permitir la caracterización de los pacientes con BASH.

2.4 Definición del problema

La cirrosis hepática es el resultado final del daño causado por diferentes enfermedades crónicas que afectan al tejido hepático. Entre sus principales etiologías se encuentran hepatitis por virus C, NASH y ASH, así como una nueva enfermedad en la que están implícitos el daño por obesidad y consumo de alcohol conocida como BASH.

Se conoce la influencia de estrés oxidativo, la producción alterada de citocinas y otros factores en NASH, sugiriendo que es el resultado de numerosas condiciones que actúan en paralelo. Además, se sabe que en el consumo agudo y crónico de alcohol existe alteración en la producción de citocinas de respuesta inflamatoria que afecta en la progresión del daño hepático en ASH. Sin embargo, a pesar de la gran implicación del número creciente de pacientes afectados por BASH, hasta nuestro conocimiento a la fecha se desconoce si existen diferencias en los perfiles de citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias en este tipo de etiologías (ASH, NASH y BASH); esto permitiría

establecer en un futuro, perfiles de marcadores que puedan diferenciar entre las hepatopatías que presentan un importante incremento en México y en el mundo.

2.5 Antecedentes directos

El conjunto de pacientes que están expuestos a factores riesgo para ASH y NASH es un área gris de pacientes que ha sido estudiada a lo largo del tiempo por varios autores como se muestra en la Figura 2.

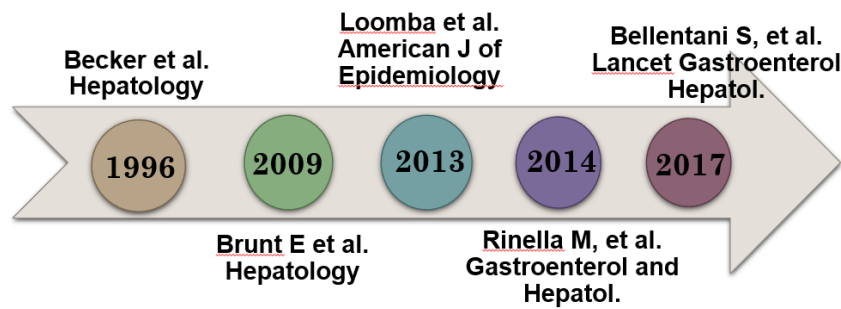


Figura 1. Concepto de BASH en el tiempo

Una serie de estudios han descrito aspectos básicos de esta población. Becker et al., reportaron la asociación entre el consumo de alcohol y el riesgo de desarrollar ASH, encontrando un riesgo elevado en un consumo >6 bebidas por semana para mujeres y 14 bebidas por semana para hombres, siendo dosis dependiente de elevación del riesgo. Se ha descrito dificultad en una adecuada clasificación de los pacientes, clasificando pacientes como ASH únicamente por el consumo de alcohol, sin tomar en cuenta el riesgo atribuido por las alteraciones metabólicas (Becker, et al., 1996). Posteriormente Brunt et al., describieron las características de ASH y NASH dígase degeneración vacuolar y esteatosis micro vesicular, fibrosis perivenular, necrosis esclerosante hialina,

pericolangitis con polimorfonucleares, colestasis canalicular, y cuerpos de Mallory-Denk. Sin embargo, hacen claro énfasis que existe un solapamiento de esteatosis y esteatohepatitis alcohólica y metabólica que un patólogo no pudiera discernir el diagnóstico clínico (Brunt E, et al., 2009). Loomba R, *et al.* analizaron la asociación entre el índice de masa corporal (IMC), consumo de alcohol y su efecto aislado y combinado en el incremento del riesgo de elevación sérica de alanino aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST). Con una población de 2364 con edad media de 70 años, IMC de 25 kg/m², 63% de participantes con consumo de alcohol, definiendo elevación de ALT como \geq a 30U/L en hombre y \geq a 19U/L en mujeres, encontrando la obesidad como factor que elevo la probabilidad de aumento en la ALT 3 veces en hombres y 1.8 veces en mujeres. El efecto en conjunto de ambos factores al consumir >3 bebidas estándar/día y obesidad aumento la probabilidad de elevación de la ALT en 8.9 veces, y la elevación de la AST en 21 veces demostrando sinergismo. Hart CL, *et al.* investigaron la relación entre el consumo de alcohol y el IMC elevado en el aumento del riesgo de enfermedades hepáticas en un análisis de cohortes prospectivas con una población de 9,559 personas, que se dividió entre población con IMC>25, 25 a 30 y >30 kg/m², consumo de alcohol como nulo, de 1 a 14 Unidades(U) y >15 U por semana. En este estudio se encontró que el consumo de alcohol y el IMC están fuertemente asociados a mortalidad por hepatopatía; con predominio de elevación de riesgo a los obesos con un consumo de alcohol y a aquellos con consumo de > 15 U por semana independientemente de su IMC con un riesgo relativo para mortalidad por hepatopatía de 3.16 para normo peso, 7.01 para

sobrepeso y 18.9 para obesos. Pacientes obesos con ingesta de alcohol de 1 a 14U por semana fue de 5.31 y un exceso de riesgo relativo en la interacción entre IMC y consumo de alcohol de 5.58, con un índice sinérgico de 2.89 (Hart CL, *et al.* 2005). Loomba R, *et al.* estudiaron como la relación entre consumo de alcohol y obesidad multiplica o adiciona un incremento en el riesgo de incidencia de CHC en hombres y mujeres en un cohorte representativo de población de Taiwan, en total 11,973 hombres y 11,847 mujeres, (50% de población) seguimiento por 11 años, con población de edad media de 47 años, encontraron que alcoholismo y obesidad con un $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$ tenían un sinergismo en la incidencia de CHC, encontrando una interacción multiplicativa con un exceso de riesgo por interacción de 4.83, proporción atribuible de 0.67 e índice de sinergia de 4.53. Rinella Mary E. *et al.* clasificaron la NAFLD como aquella esteatosis estable, y NASH como aquella con riesgo de progresión, valorando en histología esteatosis, inflamación, balonización celular siendo esta última característica uno de los criterios para diferenciar una entidad de la otra con una mala replicación inter observador. Los efectos de un consumo leve-moderado de alcohol en un marco de NAFLD permanecen oscuros, con resultados de estudios variables los cuales permiten un consumo moderado de alcohol (<30g/día en hombres y <20g/día en mujeres). Existe un riesgo relacionado el consumo de alcohol con la hepatopatía (>60g/día hombres y 40 g/día mujeres). Rinella ME *et al.* introduce por primera vez el concepto de BASH, al espectro de consumo de alcohol en riesgo de hepatopatía en un marco de riesgo de obesidad y DM2 (Rinella ME. *et al.* 2014). Sookoian S, *et al.* realizaron un metaanálisis con 43, 175 pacientes, valorando que el consumo

moderado de alcohol reduce la progresión de NAFLD a NASH, clasificando a los pacientes como no alcohólicos en consumo de 0 g/día de alcohol y consumo moderado aquellos con consumo de <40g/día alcohol, factor benéfico independiente de IMC, igualmente asociado el consumo moderado de alcohol como factor protector ante NASH, el 31% en riesgo de NAFLD y un 50% en NASH. Sánchez-Jiménez BA *et al.*, evaluaron la relación de riesgo cardiovascular y enfermedad hepática en BASH en comparación con NASH y ASH en un total de 414 pacientes, encontrando un consumo de alcohol >140 g/semana y un IMC>25 kg/m² como riesgo para riesgo cardiovascular, para fibrosis el riesgo es únicamente con consumo de alcohol >140 g/semana con un riesgo aditivo de las patologías en riesgo cardiovascular sin un claro proceso fisiopatológico (Sánchez-Jiménez BA *et al.*, 2018).

Hasta el momento se ha establecido la elevación de riesgo cardiovascular y de hepatopatía por sinergia y factores multiplicativos de riesgo entre consumo de alcohol y obesidad y DM2 en desenlaces clínicos, sin embargo, no existe hasta ahora un estudio que demuestre el comportamiento de factores de respuesta inflamatoria y anti-inflamatoria (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 y TNF- α) en pacientes con BASH.

2.6 Justificación

La cirrosis hepática es la 4ª causa de muerte en México en población económicamente activa. Esta puede ser atribuida a diversas etiologías, entre las cuales destacan el alcoholismo crónico y la acumulación de grasa en el hígado no asociadas al consumo de alcohol como NAFLD y NASH, estrechamente relacionadas con tener sobrepeso, presión arterial alta, diabetes o prediabetes y colesterol alto.

Según la ENA-2016 en México el consumo diario de alcohol aumentó con respecto a 2011 (de 0.8% a 2.9%) y en los hombres pasó de 1.4% a 4.5% y en las mujeres de 0.2% a 1.4%. Mientras que el sobrepeso y obesidad en nuestro país son un problema creciente, que afecta a todo tipo de población reportándose que los últimos 10 años se ha incrementado 40% el número de pacientes con hígado graso y 90% de las personas que padecen obesidad mórbida corren el riesgo de tener hígado graso no alcohólico.

Por lo anterior, es importante establecer la implicación de citocinas de respuesta inflamatoria y anti-inflamatoria en NASH, ASH y en la muy recientemente etiología referida como BASH en población Mexicana. Esto con el fin de generar conocimiento sobre el entendimiento de estas etiologías en crecimiento para plantear futuras estrategias para el abordaje terapéutico.

Capítulo III

Hipótesis

3.1 Hipótesis Alterna: Existe diferencia en el perfil de citocinas de respuesta inflamatoria y anti-inflamatoria (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 y FNT- α) en pacientes con ASH, NASH y BASH.

3.2 Hipótesis nula: No existe diferencia en el perfil de citocinas de respuesta inflamatoria y anti-inflamatoria (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 y FNT- α) en pacientes con ASH, NASH y BASH.

Capítulo IV

Objetivos

4.1 Objetivo general

Determinar un perfil de citocinas de respuesta inflamatoria y anti-inflamatoria en pacientes con ASH, NASH y BASH.

4.2 Objetivos específicos

1. Realizar la caracterización de la población de estudio con parámetros demográficos, bioquímicos, clínicos y de imagen (NAFLD score, Ultrasonido de abdomen superior, pruebas de función hepática y FIB-4 score).
2. Determinar los niveles séricos de citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 y FNT- α) de pacientes con ASH, NASH y BASH.
3. Establecer si existe diferencia entre los perfiles de distribución de citocinas proinflamatorias y anti-inflamatorias en ASH, NASH y BASH.

Capítulo V

Material y métodos

Este estudio fue observacional, transversal y analítico, el cual dividió la población en los siguientes grupos:

- Grupo 1: pacientes con diagnóstico de ASH.
- Grupo 2: pacientes con diagnóstico de NASH.
- Grupo 3: pacientes con diagnóstico de BASH.

5.1 Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 18 años
- Diagnóstico de hepatopatía por alcohol (ASH), en consideración al consumo de alcohol mayor o igual a 5 años, 30 g/día hombres y 20 g/día mujeres.
- Diagnóstico de hepatopatía por hígado graso no alcohólico (NASH), demostrado por ultrasonido o fibroescan.
- Hepatopatía por alcohol y obesidad (BASH), en consideración al consumo de alcohol mayor o igual a 5 años 30 g/día hombres y 20 g/día mujeres y demostrado por NAFLD score, ultrasonido de abdomen superior, pruebas de función hepática y FIB-4 score.
- Pacientes del hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”
- Firma de consentimiento informado

5.2 Criterios de exclusión

- Otras enfermedades inflamatorias
- Medicamentos hepatotóxicos
- Malignidad
- Embarazadas
- Alteraciones psiquiátricas
- Alteraciones neurológicas secundarias a otra alteración diferente a una hepatopatía

5.3 Criterios de eliminación.

- Pacientes que decidieron salir del estudio.
- Alteración por otra enfermedad de base.

5.4 Toma de muestra sanguínea.

A cada paciente se le realizó una toma de sangre total. Se tomó una muestra sanguínea venosa (7 mL) del pliegue del codo, para la realización de perfil de citocinas proinflamatorias y anti-inflamatorias.

El cálculo de la muestra fue realizado con base en una población finita, por conveniencia. Se utilizó una muestra poblacional para el estudio.

5.5 Cuantificación de citocinas.

La concentración sérica de las citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 y FNT- α , se realizó mediante un kit's comerciales de ELISA-sandwich (R&D system). Se utilizó estreptavidina conjugada con peroxidasa (complejo estreptavidina-HRP) para producir un cromógeno de concentración proporcional a la de la citocina

evaluada, que fue medido mediante espectrofotometría. Como sustrato se utilizó la sal de diamonio 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico acid (ABTS), produciendo un color verde que fue leído en un lector de microplaca a una longitud de onda de 405 nm.

5.6 Análisis estadístico.

Los resultados fueron expresados como media \pm desviación estándar o mediana y rango Inter cuartil, para variables paramétricas y no paramétricas, respectivamente. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para establecer la normalidad de la muestra. Los datos fueron analizados por análisis de varianza de una vía con *post hoc* de Tukey o por una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con *post hoc* de Dunn, dependiendo de la distribución de los datos, lo cual fue establecido por la prueba de Kolmogorov-Smirnov. El análisis fue realizado utilizando en Software SPSS® (v. 17, San Diego, CA, USA). Se considero una $p < 0.05$ como significativa.

Capítulo VI

Resultados

6.1 Caracterización de la población de estudio.

La caracterización de la población con parámetros bioquímicos y clínicos de los diversos grupos de estudio, se muestran de la tabla 1 a la tabla 8.

En la tabla 1 se describen los datos demográficos y antropométricos. El grupo con BASH mostro solo diferencia significativa con respecto al grupo NASH, en gramos de consumo de alcohol por día y tiempo de consumo de alcohol en años, siendo mayor en BASH; mientras que en BASH con respecto al grupo ASH, solo hubo diferencia estadísticamente significativa en edad, IMC y datos de alteraciones metabólicas siendo valores mayores en BASH.

Tabla 1. Variables demográficas y antropométricas en los diversos grupos de estudio.

Variable	ASH	NASH	BASH
n	35(32%)	43(39%)	34 (31%)
Edad (años)	53 ± 11	59 ± 11 $\Psi\Psi$	58 ± 10*
Género F (22)	2	16	4
M (91)	33	27	30
IMC (Kg/m ²)	28 ± 6	32 ± 6 Ψ	31 ± 6*
Gramos/día OH	80 ± 87 $\Psi\Psi$	4 ± 8	70 ± 84 $\dagger\dagger$
Tiempo de consumo (años)	21 ± 19 $\Psi\Psi$	9 ± 18	21 ± 19 $\dagger\dagger$
Riesgo OH Alto	28 (80%)	0(0%)	17 (50%)
Bajo	7 (20%)	12 (28%)	17 (50%)
Nulo	0 (0%)	31 (72%)	0 (0%)
Con DM2	0 (0%)	17 (39%) $\Psi\Psi$	22 (65%)*
Resistencia a insulina	0 (0%)	30 (70%) Ψ	34 (100%)*
HTA	8 (22%)	17 (39%) Ψ	21 (62%) **

IMC: índice de masa corporal, DM2: diabetes mellitus tipo 2, HTA: hipertensión arterial. Los valores se expresaron como media ± desviación estándar o como porcentaje. BASH vs ASH:

*p<0.05; **p<0.001; BASH vs NASH: † p<0.05; †† p<0.001; NASH vs ASH: ψ p<0.05; ψ ψ p<0.001

Se observó que el grupo de BASH tuvo menores niveles de calcio respecto al grupo de daño metabólico (NASH) siendo con diferencia significativa, mientras que el grupo de ASH tuvo menores niveles con diferencia significativa de sodio, potasio y calcio respecto a los grupos de BASH y NASH (tabla 2).

Tabla 2. Variables de los parámetros bioquímicos en los diversos grupos de estudio.

Variable	ASH	NASH	BASH
Glucosa (mg/dL)	118 ± 44	115 ± 44	115 ± 41
Creat (mg/dL)	1.06 ± 0.47	1.0 ± 0.7	1.01 ± 0.43
Urea (mg/dL)	42 ± 30	39 ± 24	39 ± 26
BUN (mg/dL)	20 ± 14	19 ± 11	19 ± 12
Na (mmol/L)*	137 ± 6	139 ± 5 ψ	138 ± 5
K (mmol/L)	3.8 ± 0.7	4.3 ± 0.5 ψψ	4.1 ± 0.6 *
Cl (mmol/L)	104 ± 9	104 ± 7	103 ± 8
Ca (mg/dL)	7.8 ± 0.6	9.2 ± 0.6 ψψ	8.5 ± 0.9 **/††
P (mg/dL)	3.6 ± 0.8	3.6 ± 0.9	3.5 ± 0.8
Mg (mg/dL)	2.0 ± 0.3	1.9 ± 0.4	2.0 ± 0.4

BUN: Nitrógeno ureico por sus siglas en ingles, Na: sodio, K: potasio, Cl: cloro, Ca: calcio, P: fosforo, Mg: magnesio. Los valores se expresaron como media ± desviación estándar o como porcentaje. BASHvsASH: *p<0.05; **p<0.001; BASHvsNASH: † p<0.05; †† p<0.001; NASHvsASH: ψ p<0.05; ψ ψ p<0.001

En la tabla 3 se muestran los valores de diversos parámetros del perfil de lípidos en los diversos grupos de estudio, donde se observó una menor concentración con diferencia significativa en casi todos los parámetros del perfil

de lípidos en el grupo ASH respecto a NASH y el grupo BASH, excepto en la lipoproteína de baja densidad.

Tabla 3. Variables del perfil de lípidos en los diversos grupos de estudio.

Variable	ASH	NASH	BASH
Col total (mg/dL)	99 ± 47	162 ± 44 $\psi\psi$	144 ± 45 $**$
HDL (mg/dL)	32 ± 17	49 ± 15 ψ	53 ± 14 $*$
LDL (mg/dL)	42 ± 33	93 ± 31 ψ	87 ± 28
TG (mg/dL)	75 ± 33	133 ± 71 $\psi\psi$	110 ± 60 $*$

HDL: colesterol de alta densidad por sus siglas en ingles, LDL: colesterol de baja densidad por sus siglas en ingles, TG: triglicéridos. Los valores se expresaron como media ± desviación estándar o como porcentaje. *BASH vs ASH: *p<0.05; **p<0.01; † BASH vs NASH: † p<0.05; †† p<0.01; ψ NASH vs ASH: ψ p<0.05; $\psi\psi$ p<0.01.

En la tabla 4 se muestran parámetros hematológicos en los diversos grupos de estudio. El grupo de BASH mostró niveles hemoglobina intermedios entre los otros dos grupos, siendo con diferencia significativa. En el grupo de daño por alcohol hubo una disminución significativa en la concentración de plaquetas.

Tabla 4. Variables de los parámetros hematológicos en los diversos grupos de estudio.

Variable	ASH	NASH	BASH
Hb (g/dL)	9.7 ± 2.9	14.3 ± 5.4 $\psi\psi$	11.8 ± 2.9 $*/\dagger\dagger$
VCM (fL)	93 ± 10	94 ± 9	93 ± 9
HCM (pg)	30 ± 4	30 ± 4	30 ± 4
Plaquetas (K/uL)	136 ± 85	148 ± 92 ψ	137 ± 84

Hb: hemoglobina, VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media. Los valores se expresaron como media ± desviación estándar. *BASH vs ASH: *p<0.05; **p<0.01; † BASH vs NASH: † p<0.05; †† p<0.01; ψ NASH vs ASH: ψ p<0.05; $\psi\psi$ p<0.01.

Respecto a los parámetros de función hepática en los diversos grupos de estudio, se observó que el grupo BASH tuvo niveles altos de ALT y gama glutamiltranspeptidasa (GGT) con diferencia significativa con respecto a ASH y NASH, los niveles del albumina se encontraron entre los valores de los otros grupos, mientras que los tiempos de coagulación se observaron prolongados con diferencia significativa con respecto a los grupos de NASH y ASH. Por su parte, el grupo ASH mostro los niveles más bajos de albúmina, niveles elevados de bilirrubina total, directa e indirecta y tiempos de coagulación prolongados, con diferencia significativa (tabla 5).

Tabla 4. Variables de los parámetros de función hepática en los diversos grupos de estudio.

Variable	ASH	NASH	BASH
Albumina (g/dL)	2.6 ± 0.98	3.9 ± 0.7$\psi\psi$	3.5 ± 0.8$**$
AST (UI/L)	47 ± 32ψ	42 ± 28	52 ± 73$\dagger\dagger$
ALT (UI/L)	34 ± 24	38 ± 26	44 ± 84
GGT (UI/L)	118 ± 141.2	63.6 ± 60.9	158.9 ± 166.7$\dagger\dagger$
FA (UI/L)	112.5 ± 56.7	98.1 ± 34.2	114.9 ± 72.7
LDH (UI/L)	192 ± 132.2	239.3 ± 92.8	310.3 ± 369.3
BT (mg/dL)	3.2 ± 3.7$\psi\psi$	1.3 ± 1.7	1.7 ± 1.2
BD mg/dL	1.4 ± 1.9ψ	0.5 ± 0.9	0.5 ± 0.5$*$
BI mg/dL	1.8 ± 1.8$\psi\psi$	0.8 ± 0.8	1.1 ± 1.0
TP (s)	18.1 ± 6.0$\psi\psi$	13.5 ± 2.7	14.5 ± 3.6$**$
INR	1.6 ± 0.5$\psi\psi$	1.2 ± 0.2	1.3 ± 0.3$**$
TTP (s)	35.4 ± 7.6$\psi\psi$	30.1 ± 5.2	34.6 ± 7.0$\dagger\dagger$

AST: aspartato aminotransferasa, ALT: alanino aminotransferasa, GGT: gamma glutamiltranspeptidasa, FA: fosfatasa alcalina, LDH: lactato deshidrogenasa, BT: bilirrubina total, BD: bilirrubina directa, BI: bilirrubina indirecta, TP: tiempo de protombina, INR: índice de normalización, TTP: tiempo de tromboplastina parcial. Los valores se expresaron como media ± desviación estándar. BASH vs ASH: *p<0.05; **p<0.001; BASH vs NASH: † p<0.05; †† p<0.001; NASH vs ASH: ψ p<0.05; $\psi\psi$ p<0.001

En las variables de signos de función hepática no existió diferencia entre los grupos de estudio (tabla 6).

Tabla 6. Signos de función hepática en los diversos grupos de estudio.

Variable	ASH	NASH	BASH
Encefalopatía	13 (37%)	1 (2%)	9 (26%)
Ascitis	32 (91%)	11 (26%)	15 (44%)

Los valores se expresaron como número de pacientes y porcentaje.

En las escalas de daño hepático, no hubo diferencia significativa entre los grupos de acuerdo a Child-Pugh, BASH se comportó como grupo intermedio en FIB-4 score, NAFLD score y APRI; menor que ASH y mayor que NASH, mostrando diferencia significativa con NASH en las 3 escalas, ASH por su parte fue el grupo que presento mayores magnitud en todas las escalas y con diferencia significativa respecto de NASH en FIB-4 score, NAFLD score y APRI (tabla 7).

Tabla 7. Parámetros con diferencia significativa en los diversos grupos de estudios de acuerdo a Child Pugh.

Variable	ASH	NASH	BASH
Child-Pugh			
A (47%)	4 (11%)	34 (79%)	15 (44%)
B (33%)	17 (49%)	7 (16%)	13 (38%)
C (20%)	14 (40%)	2 (5%)	6 (18%)
FIB-4 score	7.39 ± 7.0 $\psi\psi$	3.59 ± 4.15	5.0 ± 3.78 $\dagger\dagger$
NAFLD score	1.86 ± 1.95 $\psi\psi$	0.33 ± 1.96	1.63 ± 1.94 $\dagger\dagger$
APRI	2.18 ± 2.53 $\psi\psi$	0.88 ± 0.89	1.42 ± 1.43 $\dagger\dagger$

FIB-4score: índice de Fibrosis 4, NAFLD score: índice de hígado graso no alcohólico, APRI: índice AST/plaquetas. Los valores se expresaron como media ± desviación estándar y porcentaje. *BASH vs ASH: *p<0.05; **p<0.01; † BASH vs NASH: † p<0.05; †† p<0.01; ψ NASH vs ASH: ψ p<0.05; $\psi\psi$ p<0.01.

Se realizo un análisis *post-hoc* a los subgrupos de acuerdo con la clasificación de Child-Pugh, donde se encontro diferencias significativas entre BASH y ASH: en la subclasificación de Child-Pugh A en el VCM; en Child -Pugh B en nivel de hemoglobina y ALT; y en Child-Pugh C en nivel de albumina, colesterol total y sodio (tabla 8).

Tabla 8. Variables intergrupales con diferencia significativa de acuerdo a la clasificación de Child-Pugh entre los diversos grupos de estudio.

Variable	Child-Pugh A			Child-Pugh B			Child-Pugh C		
Comparativa	ASH Vs BASH	ASH Vs NASH	BASH Vs NASH	ASH Vs BASH	ASH Vs NASH	BASH Vs NASH	ASH Vs BASH	ASH Vs NASH	BASH Vs NASH
Ca (mg/dL)	-	0.002	-	-	-	-	-	-	-
Col total (mg/dL)	-	-	-	-	0.049	-	<0.002	-	-
Na (mmol/L)	-	-	-	-	-	-	<0.004	-	-
Hb (g/dL)	-	-	-	0.041	0.002	-	-	-	-
VCM (fL)	0.044	-	-	-	-	-	-	-	-
ALT (U/L)	-	-	-	0.037	-	-	-	-	-
ALB (g/dL)	-	-	-	-	-	-	<0.035	-	-

Ca: calcio, Na: sodio, Hb: hemoglobina, VCM: volumen corpuscular medio, ALT: alanino aminotransferasa, ALB: albumina.

6.2 Niveles séricos de citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias

El análisis de las citocinas de acuerdo con la etiología, mostro que las concentraciones de IL-1 β no tuvieron una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (Figura 3).

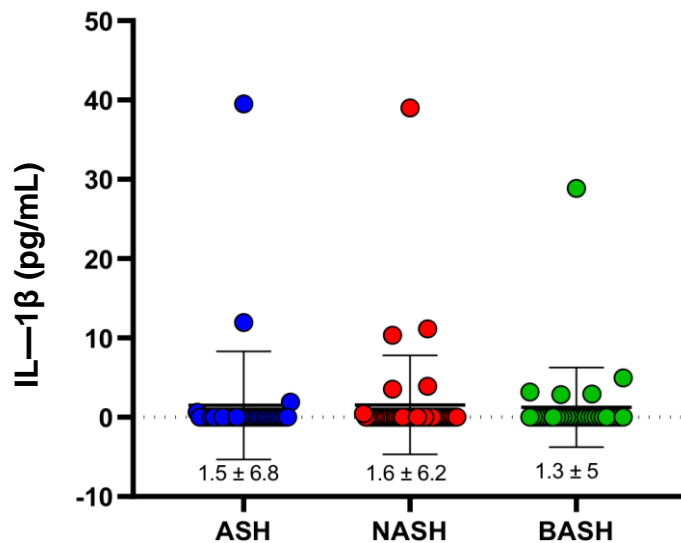


Figura 3. Niveles séricos de IL-1 β en los diversos grupos de estudio.

Los niveles de IL-10 e IL-6 tuvieron un valor intermedio en el grupo de BASH, con diferencia significativa pero mayor que NASH (747.6 ± 1134 vs 32.1 ± 105.4 y 24.9 ± 104 vs 18.3 ± 52.4 pg/mL, respectivamente, ambas con $p < 0.01$) y menor que ASH; por su parte ASH tuvo valores estadísticamente significativos más elevados de IL-10 e IL-6 respecto de NASH (1259 ± 1312 vs 32.1 ± 105.4 y 33.2 ± 54.1 vs 18.3 ± 52.4 , respectivamente, ambas con $p < 0.01$) (Figura 4 y 5).

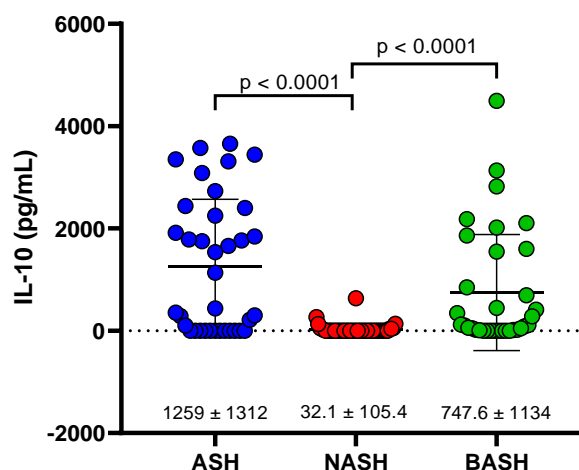


Figura 4. Niveles séricos de IL-10 en los diversos grupos de estudio.

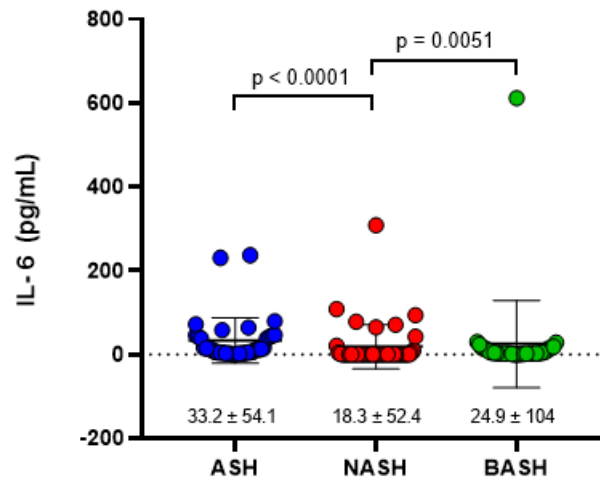


Figura 5. Niveles séricos de IL-6 en los diversos grupos de estudio.

Los valores de FNT- α ubicaron a BASH con el menor nivel de concentración y con diferencia significativa respecto de ASH (2.2 ± 6 vs 4.5 ± 7.7 , $p < 0.01$); NASH tuvo valores intermedios, con diferencia significativa respecto de ASH que fue el de mayor concentración (2.6 ± 11.6 vs 4.5 ± 7.7 , $p < 0.01$) (Figura 6).

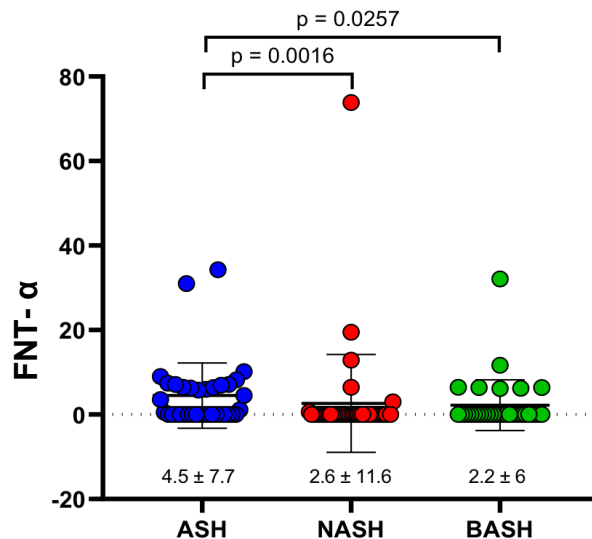


Figura 2. Niveles séricos de FNT- α en los diversos grupos de estudio.

Existió diferencia estadísticamente significativa entre los valores de IL-8 en BASH respecto de NASH (21.3 ± 18.6 vs 12.9 ± 21.5 , $p < 0.01$) y BASH respecto de ASH (21.3 ± 18.6 vs 72.9 ± 129.6 , $p < 0.01$) (Figura 7).

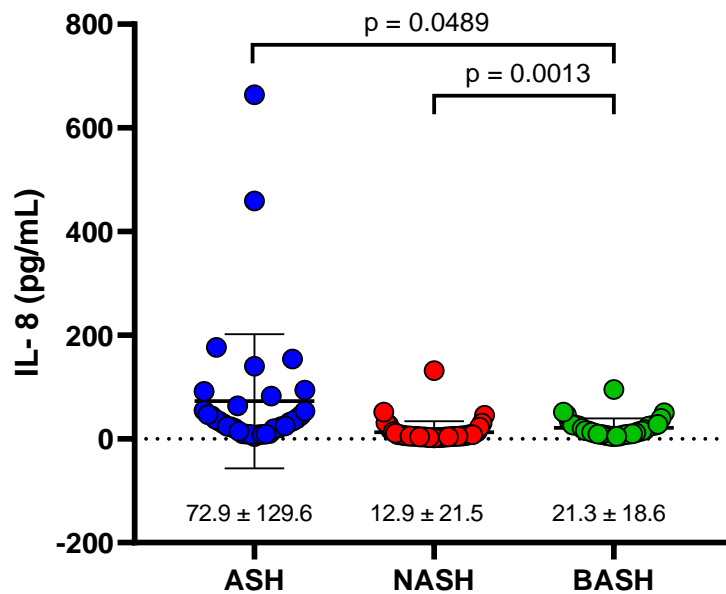


Figura 3. Niveles séricos de IL-8 en los diversos grupos de estudio

El análisis detallado con *post-hoc* a los subgrupos de acuerdo con la clasificación de Child-Pugh para las citocinas no demostró diferencias estadísticamente significativas en IL-1 β y FNT- α . En la clasificación de Child-Pugh A encontramos diferencias significativas en: IL-6 entre BASH y NASH (3.59 ± 4.811 vs 12.73 ± 54.6 , $p < 0.01$) y ASH y NASH (4.46 ± 4.48 vs 12.73 ± 54.6 , $p < 0.05$) (Figura 8).; IL-8 entre BASH y NASH (13.38 ± 6.87 vs 9.27 ± 11.14 , $p < 0.01$) (Figura 9); en IL-10 entre BASH y NASH (302.0 ± 807.3 vs 28.9 ± 109.1 , $p < 0.05$) y ASH y NASH (1697 ± 1217 vs 289.9 ± 109.1 , $p < 0.05$) (Figura 10). En la clasificación de Child-Pugh B se encontró diferencias significativas en los niveles de IL-10 entre BASH y NASH (1339 ± 1373 vs 19.17 ± 50.06 , $p < 0.01$) y ASH y NASH (1139 ± 1187 vs 19.17 ± 50.06 , $p < 0.05$) (Figura 11).

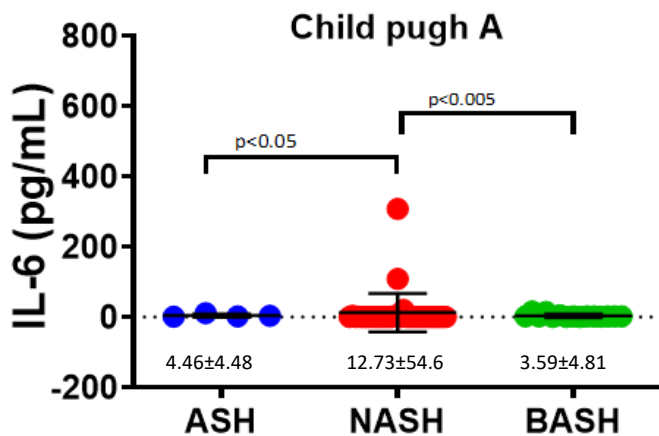


Figura 8. Niveles séricos de IL-6 de acuerdo con Child-Pugh A en los diversos grupos de estudio.

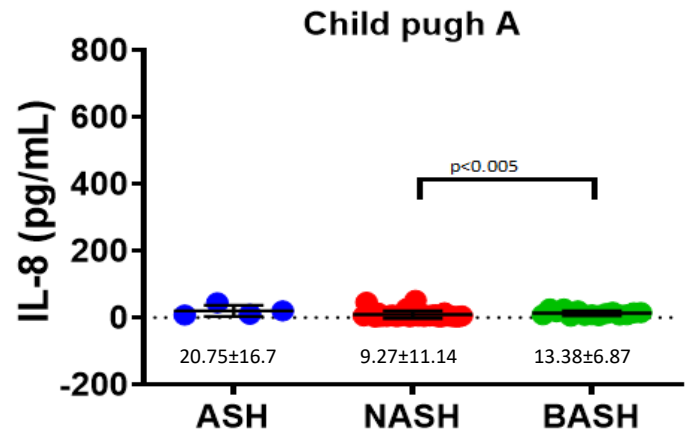


Figura 9. Niveles séricos de IL-8 de acuerdo con Child-Pugh A en los diversos grupos de estudio.

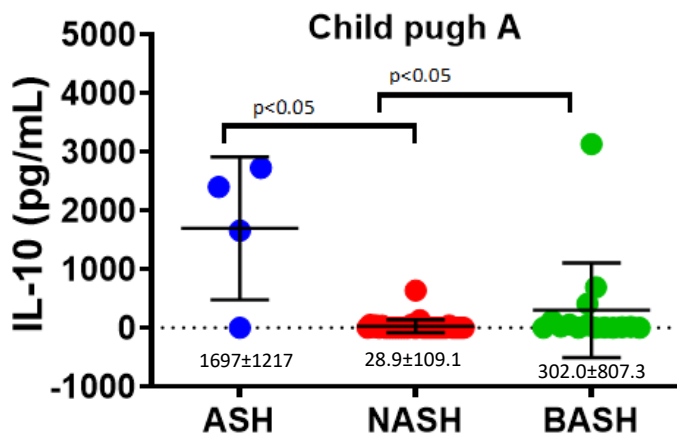


Figura 10. Niveles séricos de IL-10 de acuerdo con Child-Pugh A en los diversos grupos de estudio.

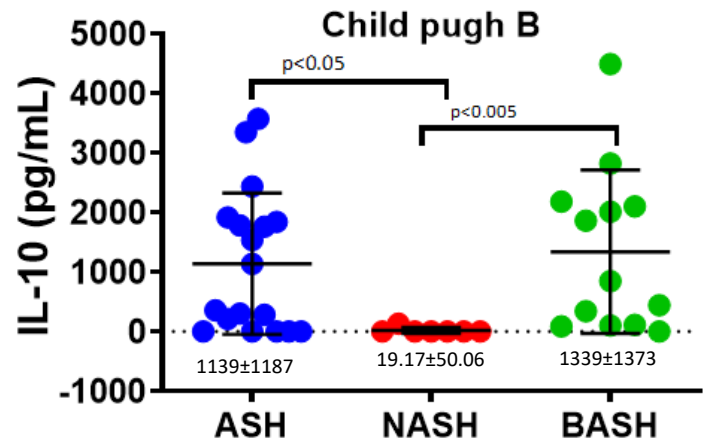


Figura 4. Niveles séricos de IL-10 de acuerdo con Child-Pugh B en los diversos grupos de estudio.

6.3 Perfiles de distribución de citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias.

Se estableció un patrón de distribución de las citocinas donde en IL-1 β no demostró diferencia de distribución entre los grupos. El grupo de ASH presento los niveles más elevados de FNT- α , IL-6, IL-8 e IL-10 respecto a los otros dos grupos. El grupo de BASH obtuvo los niveles intermedios de IL-6, IL-8 e IL-10; mismas citocinas que tuvieron una diferencia estadísticamente significativa compradas con NASH con $p < 0.01$, y las menores concentraciones de FNT- α , que junto con la IL-8 obtuvieron una diferencia estadísticamente significativa con $p < 0.05$ comparado con las concentraciones de ASH. El grupo de NASH tuvo los niveles de citocinas más bajos en IL-6, IL-8 e IL-10 y niveles intermedios de FNT- α ; FNT- α , IL-6 e IL-10 comparados con los niveles de ASH tienen una diferencia estadísticamente significativa con $p < 0.01$ (tabla 9).

Tabla 9. Patrón de distribución de citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias en los diversos grupos de estudio.

Grupo de estudio	IL-1 β	FNT- α	IL-6	IL-8	IL-10
ASH	↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑
NASH	↑	↑↑ $\psi\psi$	↑ $\psi\psi$	↑	↑ $\psi\psi$
BASH	↑	↑*	↑↑ $\dagger\dagger$	↑↑*, $\dagger\dagger$	↑↑ $\dagger\dagger$

ASH: esteatohepatitis alcohólica, NASH: esteatohepatitis no alcohólica, BASH: esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica. *BASH vs ASH: $p < 0.05$; $\dagger\dagger$ BASH vs NASH: $p < 0.01$; $\psi\psi$ NASH vs ASH: $p < 0.01$.

Capítulo VII

Discusión

La respuesta hepática inmune innata y adaptativa han sido implicadas en la patogénesis de la enfermedad hepática por alcohol e hígado graso, dos de las etiologías con mayor prevalencia en el mundo occidental. Se ha descrito que las citocinas proinflamatorias IL-1 β , FNT- α , IL-6 e IL-8 contribuyen entre otros efectos sistémicos a la acumulación neutrofílica hepática y perpetúan la inflamación de origen, por su parte también se ha descrito menor presencia de IL-10 en estas patologías asociada a gravedad.

La IL-1 β es un marcador inflamatorio, activado por LPS, modula ascenso térmico, infiltración neutrofilia, activación de monocitos y macrófagos, anorexia, alteración de metabolismo mineral, catabolismo muscular, disfunción del hepatocito, necrosis, apoptosis, y producción de proteínas de matriz extracelular y proceso de fibrosis (Barbier et al., 2019; Byun & Yi, 2017; Niederreiter & Tilg, 2018). Se ha descrito la menor progresión de esteatohepatitis y fibrosis en ausencia de esta acción de esta citocina (Kamari et al., 2011); dos estudios encontraron mayores niveles de IL-1 β en pacientes con NASH, sobre los niveles de NAFLD y controles sanos, asociados a progresión de enfermedad (Auguet et al., 2020; Hadinia et al., 2019); en otro estudio también se encontró mayor nivel de IL-1 β en pacientes con ASH sobre controles sanos (Ruiz et al., 1993). La IL-1 β solo se ha descrito comparativa entre casos y controles sanos, reportando en ASH y NASH niveles más elevados en comparación individual

con controles sanos (Hadinia et al., 2019; Idalsoaga et al., 2020; Prystupa et al., 2015; Ruiz et al., 1993). Un estudio en población mexicana describió un mayor nivel de IL-1 β en pacientes con cirrosis por alcohol, seguido por hepatitis alcohólica y con menor nivel en aquellos pacientes con consumo de alcohol sin daño hepático (Funez-Madrid, V.H. et al., 2019). Aunque en el presente estudio no se comparó contra controles sanos, los niveles de IL-1 β fueron similar entre las 3 etiologías, no encontrando diferencias significativas en los niveles de concentración de IL-1 β entre los grupos de estudio, ni de acuerdo con la clasificación de Child-Pugh.

El FNT- α es una citocina descrita como principal en el inicio del proceso inflamatorio (regula elevación térmica, neutrofilia, activación de monocitos y macrófagos, anorexia alteración de metabolismo mineral y catabolismo muscular), causa disfunción del hepatocito, necrosis y apoptosis, factor relevante en progresión de la enfermedad, interfiere con la cadena respiratoria, causa daño mitocondrial, resistencia a la insulina y fibrosis (Niederreiter & Tilg, 2018). Se ha descrito la reducción del proceso inflamatorio, necrosis y fibrosis en NASH cuando se bloquea FNT- α (Koca et al., 2008). En personas con diagnóstico de obesidad y NASH se ha descrito un aumento en la concentración de FNT- α en comparación con controles sanos (Auguet et al., 2020; Du Plessis et al., 2016; Jamali et al., 2016; Niederreiter & Tilg, 2018; Uysal et al., 2011). También se ha reportado relación de valores de FNT- α y el grado de fibrosis, edad, resistencia a la insulina, obesidad y relación directa entre niveles de FNT- α y la inflamación lobular y niveles de AST en pacientes con NASH (Du Plessis

et al., 2013, 2016; Jamali et al., 2016). En contraste, otros estudios han reportado que no existe diferencia significativa entre NASH en comparación con controles sanos (Hadinia et al., 2019; Musso et al., 2005; Torer et al., 2007). También se ha descrito elevación de FNT- α en ASH en comparación con controles sanos, sin diferencia significativa en niveles de esta citocina en subclasificación acorde a Child-Pugh (Byun & Yi, 2017; Ruiz et al., 1993). En población mexicana, se han reportado niveles séricos de FNT- α más altos en pacientes cirróticos por alcohol, seguidos de pacientes con ASH y niveles más bajos en hepatopatía por virus C (Flores-Torres A, et al., 2019). En otros estudio, se reportaron niveles más altos en NASH en comparación con ASH (Cordero-Pérez P., 2017). Esto contrasta con los resultados del presente estudio donde se encontró niveles mayores de FNT- α en el grupo con ASH seguido de NASH y en menor concentración de BASH; sin diferencias significativas en la subclasificación por Child-Pugh, lo cual pudiera ser debido a la gravedad de la enfermedad, teniendo en cuenta que la población de ASH tenía mayor presencia de pacientes con Child-Pugh C.

La IL-6 es una citocina producida por células de Kupffer y linfocitos T cooperadores tipo 2, tiene función profibrogénica y mitohinibitoria, que regula proliferación neutrofílica, e inductora de células T reguladoras, muestra protección en etapas tempranas de daño por alcohol, disminuye la apoptosis y daño mitocondrial (Kawaratani et al., 2013; Kong et al., 2019). Se ha descrito que niveles altos de IL-6 tienen relación a la gravedad de la enfermedad, inflamación lobular, y progresión de inflamación en NASH>NAFLD>controles

sanos sobre todo en conjunto con DM2 y obesidad (Hadinia et al., 2019; Jamali et al., 2016; Pillai et al., 2020; Uysal et al., 2011). Sin embargo, otros estudios no encontraron diferencia en niveles de IL-6 entre pacientes con NASH en comparación con controles sanos (Auguet et al., 2020; Du Plessis et al., 2016; Torer et al., 2007). También en ASH se ha descrito mayores niveles de IL-6 en relación directa con la gravedad de la enfermedad, incluso se ha descrito que la elevación de IL-6 de 1 pg/mL está relacionada con aumento del 5% de riesgo de cirrosis (Prystupa et al., 2015). Esto concuerda con lo reportado en otro estudio, donde se observó mayor nivel de IL-6 en ASH en comparación con controles sano, sin cambio con relación a gravedad (Ruiz et al., 1993). En población mexicana, el comportamiento de IL6 entre cirrosis por alcohol, ASH y hepatopatía por virus C, se encontró con mayores niveles de estos marcadores en cirrosis por alcohol, seguido de ASH frente a hepatopatía por virus C (Flores-Torres A, et al., 2019). En otro estudio también en pacientes mexicanos, se han reportado niveles más altos en NASH en comparación con ASH (Cordero-Pérez P., 2017). Esto contrasta con los resultados del presente estudio donde se observó mayor nivel de IL-6 en ASH seguido de BASH y menores niveles de NASH; de acuerdo con la clasificación de Child-Pugh se encontró diferencias significativas en Child-Pugh A, en orden decreciente: NASH>BASH>ASH lo cual concuerda con el estudio de Cordero-Pérez P. et al.

La IL-8 es producida por células de Kupffer, citocina relacionada con pronóstico de hepatopatía alcohólica, regula quimiotaxis neutrofílica y progresión de la

enfermedad (Byun & Yi, 2017; Kawaratani et al., 2013; Niederreiter & Tilg, 2018). Varios estudios han reportado mayores niveles de IL-8 en NASH en comparación con controles sanos y además se ha descrito la relación de mayores niveles de IL-8 en NASH con degeneración balonoide; así como con mayores niveles de IL-1 β , IL-6, FNT- α , progresión histológica, edad, resistencia a insulina, niveles de AST y fibrosis (Auguet et al., 2020; Jamali et al., 2016, ; Du Plessis et al., 2016; Torer et al., 2007; Uysal et al., 2011). Otro estudio, reporto la elevación de IL-8 en pacientes con ASH en comparación con controles sanos, junto con una relación directa con hipertensión portal y gravedad de enfermedad (Dominguez et al., 2009). En población mexicana, se encontró niveles mayores de IL-8 en cirrosis por alcohol, seguido de ASH frente a hepatopatía por virus C (Flores-Torres A, et al., 2019). Otro estudio en población mexicana analizó la participación de las quimiocinas IL-8 y describió sus concentraciones en hepatopatías por alcohol, metabólica, por virus C y controles sanos, encontrando mayores niveles de IL-8 en cirrosis por alcohol, respecto de NASH y seguido de otras etiologías (Hernández- Santillán M, et al., 2019). Esto concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde se observaron, mayores niveles de IL-8 en el grupo de ASH seguido por BASH y al final por NASH y solo con diferencia estadísticamente significativa en Child-Pugh A entre BASH y NASH.

Por su parte, la IL-10 es una citocina anti-inflamatoria que intenta controlar el daño inducido por diversos agentes etiológicos (Idalsoaga et al., 2020). Es una

citocina producida por células de Kupffer, reduce niveles de FNT- α , regula proliferación de células inflamatorias e inductora de células T reguladoras (Kawaratani et al., 2013; Kong et al., 2019). Se ha descrito mayor nivel de IL10 en pacientes con NASH en comparaciones con controles sanos (Auguet et al., 2020). Sin embargo, otro estudio que evidencio una disminución de los niveles de IL-10 en pacientes con NASH (Pusi et al., 2008). En población mexicana, el comportamiento de IL-10 se encontró con niveles mayores en pacientes con cirrosis por alcohol, seguido de ASH frente a hepatopatía por virus C (Flores-Torres A, et al., 2019). Otro estudio en población mexicana describió la concentración de IL-10 en hepatopatía por alcohol, metabólica, hepatopatía por virus C y controles, encontrando mayores niveles de esta citocina en cirrosis por alcohol, respecto de NASH y seguido de otras etiologías (Hernández- Santillán M, et al., 2019). En el presente estudio, se encontró mayores niveles de IL-10 en ASH seguido de BASH y en menor concentración en NASH.

Hasta lo reportado a la fecha, este es el primer estudio que describe los niveles de citocinas pro-inflamatorias y antiinflamatorias en pacientes con BASH en comparación con pacientes con ASH y NASH.

Capítulo VIII

Conclusiones

- En la presente investigación, se logró establecer un perfil diferencial en las citocinas pro y anti-inflamatorias.
- Se observó en orden creciente que los niveles de las citocinas IL-8, IL-6 e IL-10 en los grupos de estudio fueron: NASH < BASH < ASH.
- Mientras que los niveles de FNT- α fueron: BASH < NASH < ASH.
- Los niveles de IL-1 β fueron similares entre los 3 grupos de estudio.
- Aunque los niveles de las citocinas en BASH se esperaban más altos por tener 2 factores inductores de daño, se observó que estos fueron menores solamente en comparación con ASH. Esto puede ser atribuido a que el grupo con BASH tenía menor número de pacientes Child-Pugh C, por lo que es interesante incrementar el tamaño de la muestra para conclusiones definitivas.

Capítulo IX

Anexos

9.1 Consentimiento informado



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO



FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio	Comparación de citocinas de respuesta inflamatoria y marcadores de estrés oxidativo en pacientes con ASH, NASH y BASH
Nombre del Investigador Principal	Dra. C. Lilliana Torres González
Servicio/Departamento	Departamento de Medicina Interna
Teléfono de Contacto	44-44-25-73-51
Persona de Contacto	Dr. Leonardo Rene Aguilar Rivera
Versión de Documento	1.2
Fecha de Documento	03 de julio de 2019

Usted ha sido invitado(a) a participar en un estudio de investigación. Este documento contiene información importante acerca del propósito del estudio, lo que Usted hará si decide participar, y la forma en que nos gustaría utilizar su información personal y la de su salud. Puede contener palabras que Usted no entienda. Por favor solicite a su médico o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara.

¿CUÁL ES EL PROPÓSITO DEL ESTUDIO?

El propósito de este estudio es determinar el nivel de moléculas que regulan en proceso de inflamación conocidas como citocinas proinflamatorias y moléculas asociadas al estrés celular conocidas como marcadores de estrés encontradas en el suero de pacientes con enfermedad hepática asociada a alcohol, grasa y ambos factores, para poder determinar si existe diferencia significativa entre estas, ya que antes no se consideraba pacientes con ambas características.

Se solicita su participación al cumplir los criterios necesarios para este estudio, dentro de los cuales se encuentra ser mayor de edad, tener diagnóstico de estas enfermedades y no tener otra enfermedad.

La investigación en la que Usted participará es importante porque con los resultados obtenidos se espera poder establecer la implicación de la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo en estos padecimientos y plantear futuras estrategias para el abordaje terapéutico de estas enfermedades de creciente frecuencia.

¿CUÁL SERÁ LA DURACIÓN DEL ESTUDIO Y CUÁNTOS PARTICIPANTES HABRÁ EN ESTE ESTUDIO?

La duración del estudio será de aproximadamente 1 año, pero a usted solo se le solicitará su participación una única vez.

Se reunirá una muestra poblacional, de pacientes que acudan al área de Medicina Interna y Unidad de Hígado del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González".

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
P.O. Box 1000, Monterrey, N.L., México
Tel: 44-2213-2196 y 2148-9402
Central de correo: Hospital Universitario

Formato de Consentimiento Informado V. 1.2





UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO



¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS QUE SE TOMARÁN EN CUENTA PARA MI PARTICIPACIÓN?

Los criterios de inclusión y exclusión son los siguientes:

Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 18 años
- Diagnóstico de hepatopatía por alcohol (ASH), en consideración al consumo de alcohol mayor o igual a 5 años 30 g/día hombres y 20g/día mujeres.
- Diagnóstico de hepatopatía por hígado graso no alcohólico (NASH), demostrado por ultrasonido o fibroscan
- Hepatopatía por alcohol y obesidad (BASH), en consideración al consumo de alcohol mayor o igual a 5 años 30 g/día hombres y 20g/día mujeres y demostrado por NAFLD score, Ultrasonido de abdomen superior, pruebas de función hepática y FIB-4 score.
- Pacientes usuarios en el hospital Universitario Dr. José Eleuterio González,
- Independientes
- Firma de consentimiento informado

Criterios de exclusión

- Otras enfermedades inflamatorias
- Medicamentos hepatotóxicos
- Malignidad
- Embarazadas,
- Alteraciones psiquiátricas
- Alteraciones neurológicas secundarias a otra alteración diferente a una hepatopatía

Criterios de eliminación.

- Pacientes que decidan salir del estudio
- Alteración por otra enfermedad de base

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
Dr. Francisco Medina Pineda y As. Grandes Col. Miguel Alemán
C.P. 64000 Monterrey, NL, México
Tel: 81 281 1200 y 81 281 9429
E-mail: fmedina@hospitaluniversitario.com

Formato de Consentimiento Informado V. 1.2



Departamento de
Medicina
Interna



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO



¿CUÁLES SON LOS PROCEDIMIENTOS QUE SE ME REALIZARÁN?

A cada paciente se le realizará una toma de muestra sanguínea venosa del pliegue del codo (7 mL) (media cucharada) al ingreso, para la realización de perfil de citocinas séricas y marcadores de estrés oxidativo.

Se determinarán citocinas proinflamatorias mediante pruebas de laboratorio (conocida como ELISA) y los marcadores de estrés oxidativo mediante pruebas de laboratorio (conocidas como espectrofotometría).

¿QUÉ VA A HACER SI USTED DECIDE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Si usted decide participar en este estudio, solo se le pedirá su consentimiento para la toma de sangre, asegurando que los datos de estas serán totalmente confidenciales.

Usted no tendrá ninguna obligación posterior a la toma de muestras. Una vez recolectadas usted no tendrá que realizar nada más.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS?

Los posibles riesgos o molestias pueden presentarse al momento de la toma de muestra sanguínea, dentro de las cuales puede ser dolor, enrojecimiento del área, hematomas, sangrado, lo cual habitualmente puede ocurrir.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS PARA USTED O PARA OTROS?

Es probable que usted no tenga un beneficio directo por su participación en esta investigación, sin embargo su participación ayudará en un futuro plantear estrategias para el abordaje terapéutico de estas enfermedades en crecimiento.

¿SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO LE GENERARÁ ALGÚN COSTO?

No habrá costos para Usted por participar en este estudio.

Se realizarán pruebas (citocinas y marcadores de estrés oxidativo) que son parte de este estudio, los cuales serán pagados por los Departamentos involucrados en el mismo.

Los gastos generados durante su estancia en el Hospital, que sean propias de su condición como: hospitalización, comida, medicamentos, estudios de laboratorio, estudios de imagen, no serán pagados por el equipo de investigación.

¿RECIBIRÁ ALGÚN PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?

Usted no recibirá ningún pago por la participación en este estudio.

¿SE ALMACENARÁN MUESTRAS DE SANGRE O TEJIDOS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES?

Autorizar el almacenamiento de sus muestras de sangre, no le generará un costo a Usted. Sus muestras serán utilizadas sólo para esta investigación. Usted no recibirá ninguna compensación ahora o en el futuro por el uso de estas muestras. Las muestras de suero serán almacenadas en congelación por un lapso aproximado de 6 meses a un año, período involucrado únicamente en este estudio. No se generaran líneas celulares permanentes o inmortales y sus muestras no serán comercializadas en ningún momento.

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
Dr. Fernando E. Medina-Rodríguez, Jefe del Departamento
Dr. Juan Carlos Rodríguez, Jefe de la Unidad de Medicina Interna
Dr. Carlos Rodríguez, Jefe de la Unidad de Medicina Interna
Dr. Carlos Rodríguez, Jefe de la Unidad de Medicina Interna

Formato de Consentimiento Informado V. 1.2



3

COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO



¿QUÉ DEBE HACER SI LE PASA ALGO COMO RESULTADO DE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Los gastos que genere dicha lesión o enfermedad sólo le serán pagados si el médico del estudio ha decidido que la lesión / enfermedad está directamente relacionada con los procedimientos del estudio, y no es el resultado de una condición pre-existente de la progresión normal de su enfermedad, o porque no se han seguido las indicaciones que el médico de estudio ha recomendado.

¿CUÁLES SON SUS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?

Si decide participar en este estudio, Usted tiene derecho a ser tratado con respeto, incluyendo la decisión de continuar o no en el estudio. Usted es libre de terminar su participación en este estudio en cualquier momento.

¿PUEDE TERMINAR SU PARTICIPACIÓN EN CUALQUIER MOMENTO DEL ESTUDIO?

Su participación es estrictamente voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar, su atención médica presente y/o futura no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría derecho de algún otro modo.

Su participación también podrá ser suspendida o terminada por el equipo de investigación, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias:

- Que el estudio haya sido cancelado.
- Que el médico considere que es lo mejor para Usted.
- Que necesita algún procedimiento o medicamento que interfiere con esta investigación.

¿CÓMO SE PROTEGERÁ LA CONFIDENCIALIDAD DE SUS DATOS PERSONALES Y LA INFORMACIÓN DE SU EXPEDIENTE CLÍNICO?

Si acepta participar en la investigación, el médico del estudio recabará y registrará información personal confidencial acerca de su salud y de su tratamiento. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio, pero podrá contener otra información acerca de Usted, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Medicina y Hospital Universitario, así como el Investigador serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al médico un resumen de su expediente clínico.

La información personal acerca de su salud y de su tratamiento del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo agencias reguladoras locales (Secretaría de Salud SSA), así como al Comité de Ética en Investigación y al Comité de Investigación de nuestra Institución.

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
Facultad de Medicina y Hospital Universitario UANL
Carretera Antón de Linares, s/n, San Nicolás de los Garza, Coahuila de Zaragoza, México
C.P. 66450
Teléfono: 81-233-1111
Correo electrónico: medicina@uanl.mx

Formato de Consentimiento Informado V. 1.2

Departamento de
**Medicina
Interna**



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO



Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar su expediente clínico, incluso los datos que fueron recabados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir su nombre, domicilio u otra información personal.

En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parte o de todo su expediente clínico. La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar sus derechos como sujeto en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información recabada durante este estudio será recopilada en bases de datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Usted autoriza el uso y revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, su médico le informará.

SI TIENE PREGUNTAS O INQUIETUDES ACERCA DE ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN, ¿A QUIÉN PUEDE LLAMAR?

En caso de tener alguna pregunta relacionada a sus derechos como sujeto de investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario podrá contactar al Dr. José Gerardo Garza Leal, Presidente del Comité de Ética en Investigación de nuestra Institución o al Lic. Antonio Zapata de la Riva en caso de tener dudas en relación a sus derechos como paciente.

Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González".
Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n
Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León México.
CP 66460
Teléfonos: (81) 83294000 ext. 2870 a 2874
Correo electrónico: investigacionclinica@meduanl.com

RESUMEN CONSENTIMIENTO

PARA LLENAR POR EL SUJETO DE INVESTIGACIÓN

- ☐ Mi participación es completamente voluntaria.
- ☐ Confirmando que he leído y entendido este documento y la información proporcionada del estudio.
- ☐ Confirmando que se me ha explicado el estudio, que he tenido la oportunidad de hacer preguntas y que se me ha dado el tiempo suficiente para decidir sobre mi participación. Sé con quién debo comunicarme si tengo más preguntas.

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n, Mitras Centro,
Col. Mitras Centro, Monterrey, N.L., México
C.P. 66460
Teléfono: (81) 83294000 ext. 2870 a 2874
Correo electrónico: investigacionclinica@meduanl.com

Formato de Consentimiento Informado V. 1.2



Departamento de
**Medicina
Interna**



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO



☐ Entiendo que las secciones de mis anotaciones médicas serán revisadas cuando sea pertinente por el Comité de Ética en Investigación o cualquier otra autoridad regulatoria para proteger mi participación en el estudio.

☐ Acepto que mis datos personales se archiven bajo códigos que permitan mi identificación.

☐ Acepto que mis materiales biológicos (sangre) recolectados puedan usarse para los fines que convengan a este estudio.

☐ Confirmando que se me ha entregado una copia de este documento de consentimiento firmado.

Nombre del Sujeto de Investigación

Firma

Fecha

PRIMER TESTIGO

Nombre del Primer Testigo

Firma

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

SEGUNDO TESTIGO

Nombre del Segundo Testigo

Firma

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
Dr. Francisco Medina Pardo, Dr. Gregorio R. de Mestas Ortiz,
C. P. 66400 Monterrey, N.L., México
Teléfono: 81 77994 y 81 68 9839
E-mail: fmedina@hospitalinternos.com.mx

Formato de Consentimiento Informado V. 1.2



Departamento de
Medicina
Interna

6

COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO



PÉRSONA QUE OBTIENE CONSENTIMIENTO

He discutido lo anterior y he aclarado las dudas. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

Nombre de la Persona que obtiene el Consentimiento

Firma

Fecha

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
Calle Luperón 1, México D.F. 06702, México
Teléfono: 55 5349 1111 ext. 3333
E-mail: medicina_interna@uanl.mx

Formato de Consentimiento Informado V. 1.2



Departamento de
Medicina
Interna



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

Capítulo X

Bibliografía

- Aguilar-Salinas, C. A., Monroy, O. V., Gómez-Pérez, F. J., Chávez, A. G., Esqueda, A. L., Cuevas, V. M., ... & Conyer, R. T. (2003). Characteristics of patients with type 2 diabetes in Mexico: results from a large population-based nationwide survey. *Diabetes care*, 26(7), 2021-2026.
- Araújo, A. R., Rosso, N., Bedogni, G., Tiribelli, C., & Bellentani, S. (2018). Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: What we need in the future. *Liver International*, 38, 47-51.
- Asrani, S. K., Devarbhavi, H., Eaton, J., & Kamath, P. S. (2018). Burden of liver diseases in the world. *Journal of hepatology*.
- Becker, U., Deis, A., Sorensen, T. I., Gronbaek, M., Borch-Johnsen, K., Muller, C. F., ... & Jensen, G. (1996). Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex, and age: a prospective population study. *Hepatology*, 23(5), 1025-1029.
- Bellentani, S., & Tiribelli, C. (2017). Is it time to change NAFLD and NASH nomenclature?. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2(8), 547-548.
- Bernal-Reyes, R., Saenz-Labra, A., & Bernardo-Escudero, R. (2000). Prevalence of non-alcoholic steatohepatitis. Comparative study with diabetic patients. *Revista de gastroenterología de Mexico*, 65(2), 58-62.
- Browning, J. D., Szczepaniak, L. S., Dobbins, R., Nuremberg, P., Horton, J. D., Cohen, J. C., ... & Hobbs, H. H. (2004). Prevalence of hepatic steatosis in an

urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*, 40(6), 1387-1395.

Brunt ME. (2009) What's in a name? *Hepatology*, 50, (3), 663-667

Brunt, E. M., Kleiner, D. E., Wilson, L. A., Belt, P., Neuschwander-Tetri, B. A., & NASH Clinical Research Network (CRN). (2011). Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*, 53(3), 810-820.

Byass, P. (2014). The global burden of liver disease: a challenge for methods and for public health. *BMC medicine*, 12(1), 159.

Caligiuri, A., Gentilini, A., & Marra, F. (2016). Molecular pathogenesis of NASH. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1575.

Cusi, K. (2012). Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications. *Gastroenterology*, 142(4), 711-725.

Chalasani, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., ... & Sanyal, A. J. (2012). The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*, 55(6), 2005-2023.

Day, C. P., & James, O. F. (1998). Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*, 114, 842-845.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016

Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y tabaco 2016-2017;

reporte de consumo de alcohol: prevalencias globales, patrones de consumo y

variaciones

estatales. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/234856/CONSUMO_DE_DROGAS.pdf

European Association For The Study Of The Liver, & European Association for the Study of Diabetes (EASD). (2016). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Obesity facts*, 9(2), 65-90.

Ekstedt, M., Franzén, L. E., Holmqvist, M., Bendtsen, P., Mathiesen, U. L., Bodemar, G., ... & Mathiesen, U. L. (2009). Alcohol consumption is associated with progression of hepatic fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 44(3), 366-374.

Forlani, G., Giorda, C., Manti, R., Mazzella, N., De Cosmo, S., Rossi, M. C., ... & Guida, P. (2016). The burden of NAFLD and its characteristics in a nationwide population with type 2 diabetes. *Journal of diabetes research*, 2016.

Hart, C. L., Morrison, D. S., Batty, G. D., Mitchell, R. J., & Smith, G. D. (2010). Effect of body mass index and alcohol consumption on liver disease: analysis of data from two prospective cohort studies. *Bmj*, 340, c1240.

Haflidadottir, S., Jonasson, J. G., Norland, H., Einarsdottir, S. O., Kleiner, D. E., Lund, S. H., & Björnsson, E. S. (2014). Long term follow-up and liver-related death rate in patients with non-alcoholic and alcoholic related fatty liver disease. *BMC gastroenterology*, 14(1), 166.

Liu W, Baker RD, Bhatia T, Zhu L, Baker SS (2016). Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Molecular Life Science*, 73(10), 1969-87.

Loomba, R., Yang, H. I., Su, J., Brenner, D., Barrett-Connor, E., Iloeje, U., & Chen, C. J. (2013). Synergism between obesity and alcohol in increasing the risk of hepatocellular carcinoma: a prospective cohort study. *American journal of epidemiology*, 177(4), 333-342.

Loomba, R., Yang, H. I., Su, J., Brenner, D., Iloeje, U., & Chen, C. J. (2010). Obesity and alcohol synergize to increase the risk of incident hepatocellular carcinoma in men. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 8(10), 891-898.

Lozano, R., Naghavi, M., Foreman, K., Lim, S., Shibuya, K., Aboyans, V., ... & AlMazroa, M. A. (2012). Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The lancet*, 380(9859), 2095-2128.

Ludwig, J., Viggiano, T. R., McGill, D. B., & Oh, B. J. (1980, July). Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 55, No. 7, pp. 434-438).

Mathurin, P., Beuzin, F., Louvet, A., Carrié-Ganne, N., Balian, A., Trinchet, J. C., ... & Naveau, S. (2007). Fibrosis progression occurs in a subgroup of heavy drinkers with typical histological features. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 25(9), 1047-1054.

Naveau, S., Giraud, V., Borotto, E., Aubert, A., Capron, F., & Chaput, J. (1997). Excess weight risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatology*, 25(1), 108-111.

NCD Risk Factor Collaboration. (2016). Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4· 4 million participants. *The Lancet*, 387(10027), 1513-1530.

Raynard, B., Balian, A., Fallik, D., Capron, F., Bedossa, P., Chaput, J. C., & Naveau, S. (2002). Risk factors of fibrosis in alcohol-induced liver disease. *Hepatology*, 35(3), 635-638.

Rehm, J., Mathers, C., Popova, S., Thavorncharoensap, M., Teerawattananon, Y., & Patra, J. (2009). Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders. *The lancet*, 373(9682), 2223-2233.

Rinella, M., & Charlton, M. (2016). The globalization of nonalcoholic fatty liver disease: prevalence and impact on world health. *Hepatology*, 64(1), 19-22.

Rinella ME. (2015) Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA*;313(22):2263-73

Sánchez-Jiménez, B. A., Brizuela-Alcántara, D., Ramos-Ostos, M. H., Alva-López, L. F., Uribe-Esquivel, M., & Chávez-Tapia, N. C. (2018). Both alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis association with cardiovascular risk and liver fibrosis. *Alcohol*, 69, 63-67.

Singh, S., Allen, A. M., Wang, Z., Prokop, L. J., Murad, M. H., & Loomba, R. (2015). Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 13(4), 643-654.

Sookoian, S., Castaño, G. O., & Pirola, C. J. (2014). Modest alcohol consumption decreases the risk of non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis of 43 175 individuals. *Gut*, 63(3), 530-532.

Stein, E., Cruz-Lemini, M., Altamirano, J., Ndugga, N., Couper, D., Abrales, J. G., & Bataller, R. (2016). Heavy daily alcohol intake at the population level

predicts the weight of alcohol in cirrhosis burden worldwide. *Journal of hepatology*, 65(5), 998-1005.

Szabo, G., & Iracheta-Vellve, A. (2015). Inflammasome activation in the liver: Focus on alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*, 39, S18-S23.

Tannapfel, A., Denk, H., Dienes, H. P., Langner, C., Schirmacher, P., Trauner, M., & Flott-Rahmel, B. (2011). Histopathological diagnosis of non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease. *Virchows Archiv*, 458(5), 511-523.

Tilg, H., & Moschen, A. R. (2010). Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*, 52(5), 1836-1846.

Thun, M. J., Peto, R., Lopez, A. D., Monaco, J. H., Henley, S. J., Heath Jr, C. W., & Doll, R. (1997). Alcohol consumption and mortality among middle-aged and elderly US adults. *New England Journal of Medicine*, 337(24), 1705-1714.

Vernon, G., Baranova, A., & Younossi, Z. M. (2011). Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 34(3), 274-285.

WHO. Global status report on alcohol 2004. Geneva: World Health Organization; 2004

Xu, C., Yu, C., Ma, H., Xu, L., Miao, M., & Li, Y. (2013). Prevalence and risk factors for the development of nonalcoholic fatty liver disease in a nonobese Chinese population: the Zhejiang Zhenhai Study. *The American journal of gastroenterology*, 108(8), 1299.

Younossi, Z. M., Koenig, A. B., Abdelatif, D., Fazel, Y., Henry, L., & Wymer, M. (2016). Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, 64(1), 73-84.

Capítulo XI

Resumen autobiográfico

Nací el lunes 16 de septiembre de 1991, en la ciudad de San Luís Potosí, S.L.P., primogénito, mi madre maestra con especialidad en matemáticas y mi padre contador.

Durante los últimos 29 años me desarrolle en artes marciales, Kung-Fu, natación, futbol soccer, gimnasia olímpica y artes como pintura al óleo, danza folclórica (huapango) y danzón.

Mi segundo idioma es inglés y parcialmente italiano.

Soy a fin al deporte, y fanático del cine y cocina.

En escuela desde los 19 días de nacido hasta la preparatoria en S.L.P. para posteriormente ingresar a la Facultad de Medicina de la UANL a los 17 años, donde terminé la licenciatura con mención honorífica y premio a la excelencia en el EGEL.

Ingrese a la especialidad de Medicina Interna en el Hospital universitario “José Eleuterio González”, actualmente en el cuarto año de la especialidad.

Perspectivas al momento, ingresar a la subespecialidad de Reumatología en el Hospital universitario “José Eleuterio González”.

Tesis_Final_Extenso_14.12.2020_1_DR._LEONARDO_AGUILA.

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE
INTERNET

6%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

2%

★ www.elsevier.es

Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 5 words

Excluir bibliografía

Activo



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



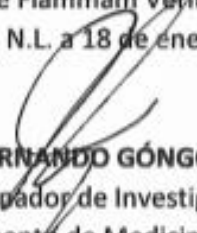
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

DR. med. FERNANDO MONTES TAPIA
Secretario Académico del Área Clínica
Presente.-

Por medio de la presente hago constar que la tesis titulada "Comparación de Citocinas de Respuesta Inflamatoria y Marcadores de Estrés Oxidativo en Pacientes con ASH, NASH y BASH" cuyo autor es el Dr. Leonardo René Aguilar Rivera del programa "Especialidad de Medicina Interna", ha sido revisada por el programa Turnitin, encontrando un 14% de similitud y después de la interpretación de los datos se ha llegado a la conclusión que no existe evidencia de plagio de la tesis.

Quedó a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.

Atentamente
"Alere Flammam Veritatis"
Monterrey, N.L. a 18 de enero de 2021


DR. JUAN FERNANDO GÓNGORA RIVERA
Coordinador de Investigación
Departamento de Medicina Interna


Or- 04/01/2021

c.c.p Jefe del Departamento de Jefatura de Medicina Interna (Dr. med. Homero Nañez Terreros)

c.c.p. Jefe del Programa de Enseñanza de Posgrado de Medicina Interna (Dr. Francisco Moreno Hoyos)

Dep. de
Medicina Interna

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
Av. Francisco I. Madero Pta. s/n y Av. Gonzáles, Col. Mitras Centro,
C.P. 64460 Monterrey, N.L., México
Tels. 81 8333 7700 y 81 8346 8828
E-mail: medicinainterna.hu@uanl.mx

